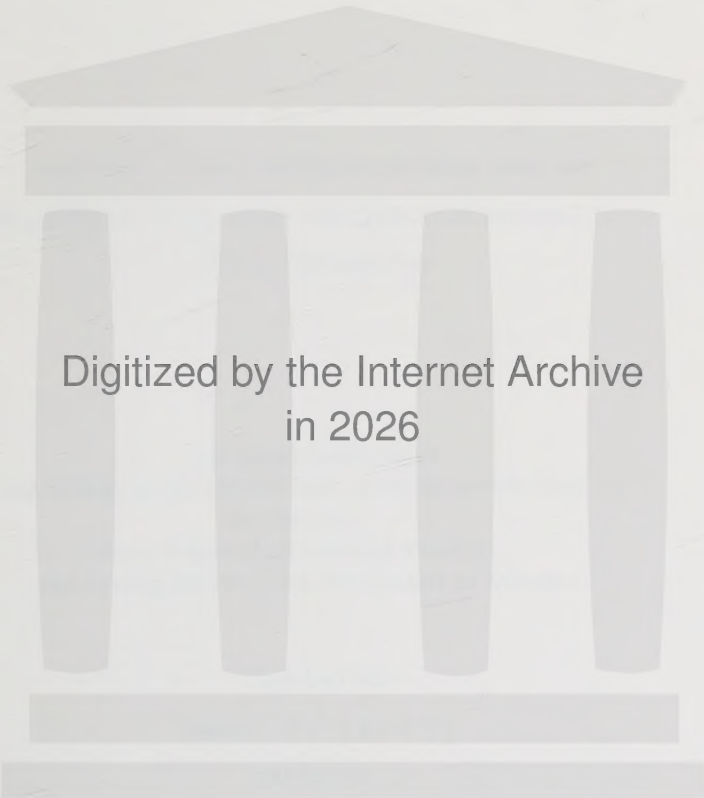


MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
BEZIEHUNGEN ZWISCHEN GESCHLECHTSCHROMATIN
UND X-CHROMOSOM

Rainer P o m p e c k i

1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554023_0109

AUS DER I. FRAUENKLINIK UND HEBAMMENSCHULE
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Bickenbach

MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
BEZIEHUNGEN ZWISCHEN GESCHLECHTSCHROMATIN
UND X-CHROMOSOM

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

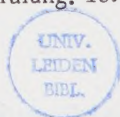
vorgelegt von
Rainer P o m p e c k i
aus Breslau

München 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. med. H.-J. SOOST
Mitberichterstatter:	Professor Dr. med. W. BICKENBACH
Dekan:	Professor Dr. med. M. KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 18. 7. 1967



INHALTSVERZEICHNIS

- I. Einleitung
- II. Problemstellung
- III. Morphologie und Theorie der menschlichen Geschlechtschromatine
 - 1. Morphologie des Geschlechtschromatins
 - 2. Beziehungen zwischen Geschlechtschromatin und X-Chromosom
 - a) das heteropyknotische X-Chromosom
 - b) numerische Beziehungen
 - c) morphologische Beziehungen
 - 3. Theorie des Geschlechtschromatins
- IV. Krankheitsbilder bei Geschlechtschromosomenaberrationen
 - 1. numerische Aberrationen
 - 2. strukturelle Aberrationen
- V. Materialbeschreibung
- VI. Auswahl der Patientinnen
- VII. Arbeitsmethode
- VIII. Ergebnisse der Untersuchungen
 - 1. an den phänotypisch normalen Frauen
 - 2. an den Patientinnen
 - 3. Signifikanzteste
 - 4. Klinische Befunde der Patientinnen
- IX. Diskussion der Ergebnisse
 - 1. Diskussion der Normalwerte
 - 2. Diskussion der Zahlenergebnisse bei den Patientinnen
 - 3. Diskussion der Signifikanz der Zahlenergebnisse
 - 4. Diskussion der Korrelation der Ergebnisse
 - 5. Beziehungen zwischen Geschlechtschromatinbefunden und klinischen Befunden der Patientinnen
- X. Diskussion der Methode
- XI. Zusammenfassung
- XII. Literaturverzeichnis

EINLEITUNG

Im Jahre 1949 entdeckten Barr und Bertram, daß sich die Nervenzellen ausgewachsener weiblicher Katzen von denen ausgewachsener männlicher Katzen gestaltlich unterscheiden: in 30 bis 40 % der Nervenzellen der weiblichen Tiere findet sich neben dem Nucleolus ein zweites, kleineres basophiles Kernkörperchen, welches in männlichen Kernen sehr selten ist und dazu viel kleiner. Daraufhin wurde ein entsprechendes geschlechtsspezifisches Kernkörperchen in verschiedenen Geweben vieler Tierarten gesucht (z. B. Wolf-Heidegger, G. und Klinger, H. P. 1958; Moore, K. L. 1962). Man fand es weit verbreitet, unter anderem auch in den Zellkernen der Frau.

Das Geschlechtschromatin wird in Gewebskulturen, z. B. von Hautbiopsien, in Gewebsschnitten und in Zellausstrichen, z. B. von Mundschleimhaut und Schleimhaut aus dem Urogenitaltrakt (Carpentier, P. J. 1962) untersucht. In lebenden Zellen kann man es mit Hilfe der Phasenkontrastmikroskopie beobachten und ebenso im gefärbten Präparat mittels eines Lichtmikroskops (Schwarzacher, H. G. 1964).

PROBLEMSTELLUNG

Wir untersuchten die Geschlechtschromatine menschlicher Mundschleimhautzellen lichtmikroskopisch zur Klärung folgender Fragen:

- 1.) Wie häufig tritt das Geschlechtschromatin in den Mundschleimhautzellen normaler erwachsener weiblicher Personen auf und wie groß ist seine durchschnittliche Flächenausdehnung?
- 2.) Wie häufig treten unter pathologischen Bedingungen Geschlechtschromatine auf und wie groß sind die durchschnittlichen Flächenausdehnungen der Geschlechtschromatine der Patientinnen?
- 3.) Entspricht die Abweichung der Häufigkeit des Geschlechtschromatins von der Norm einer Abweichung der Chromosomenzahl der Zelle von der Norm?
- 4.) Unterscheiden sich die Flächen der Geschlechtschromatine von Frauen mit anomalen Chromatinbefunden signifikant von der Norm?
- 5.) Wie verhalten sich Geschlechtschromatine von abnormer Größe zur Gestalt der X-Chromosomen der Zellen? In welchem Grad korrelieren ihre Meßwerte?
- 6.) Welche klinischen Befunde zeigen die Personen mit abnormen Chromatinbefunden?

MORPHOLOGIE UND THEORIE DES MENSCHLICHEN GESCHLECHTSCHROMATINS

Morphologie des Geschlechtschromatins

Die Geschlechtschromatine aus menschlichem Gewebe zeigen, gleichgültig woher sie stammen, eine Anzahl charakteristischer Kennzeichen. So sind sie nur in Interphasekernen sichtbar. Demars, R. (1962) fand Geschlechtschromatine nur in solchen Zellen von Hautkulturen, die einige Stunden vor der nächsten Teilung standen.

Das Geschlechtschromatin in der Ontogenese

Bei Untersuchungen des Geschlechtschromatins junger menschlicher und tierischer Keime konnten in Embryonen der ersten Teilungsstadien keine Geschlechtskörperchen festgestellt werden. Man fand sie erst in späten Blastocysten und durchaus in bereits implantierten Keimen (Austin, C. R. 1962). So erscheint das Vorhandensein eines Geschlechtschromatins als Zeichen der Differenzierung der Zelle (Austin, C. R. 1962).

Färbeeigenschaften des Geschlechtschromatins

Das Geschlechtschromatin ist Feulgen-positiv. Es färbt sich mit Orcein und zeigt eine Affinität zu basischen Farbstoffen wie Hämatoxylin, Kresylviolett und Thionin.

Gestalt und Größe des Geschlechtschromatins

Die Gestalt des Geschlechtschromatins wechselt. Es kommt als plankonvexes Körperchen vor und als Dreieck und in allen Übergängen zwischen diesen Formen. Manchmal erscheint es zweigeteilt (Wolf-Heidegger, G. 1958; Miles, C. P. 1960). Häufig verbindet eine Chromatinsträhne das Geschlechtschromatin mit dem Nucleolus und gegebenenfalls mit der Kernmembran (Miles, C. P. 1960; Homann, W. 1954). Es ist in Mundschleimhautkernen oft flacher und länger als in anderen Geweben.

Seine durchschnittliche Fläche wird mit $0,7 \times 1,2 \mu^2$ (Moore, K. L. und Barr, M. L. 1955; Barr, M. L. 1965) und $0,73 \times 1,15 \mu^2$ (Sohval, A. R. und Casselmann, W. G. B. 1961) angegeben. Die Ausmaße der Geschlechtschromatinkörperchen schwanken beim selben Menschen im selben Gewebe um 20 - 25 % der Fläche, der Geschlechtschromatine verschiedener Individuen um 30 - 35 % (Sohval, A. R. und Casselmann, W. G. B. 1961). Des weiteren treten von einem Zelltyp zum anderen geringe Größenunterschiede auf (Barr, M. L. 1965).

Größenveränderlichkeit des Geschlechtschromatins

Auf die untersuchte Schleimhaut gebrachte Antibiotika (Mundschleimhaut oder Vaginalhaut) vermögen die Fläche des Geschlechtschromatins in den Ausstrichen reversibel um über 30 % zu verkleinern (Sohval, A. R. und Casselmann, W. G. B. 1961; Pfeifer, G. 1963). Die Größe des Geschlechtschromatins ist vom Androgenspiegel unabhängig (Wolf-Heidegger, G. 1958, Zsifkovits, S., Mehes, C. und Jobst, C. 1959; Pfeifer, G. 1962).

Dichte des Geschlechtschromatins

Untersucht man die Dichte und Farbintensität der einzelnen Geschlechtschromatine, so findet man sie je nach Präparat und Fixierungsmittel verschieden (Schwarzacher, H. G. 1964). Fixation verdichtet das Geschlechtschromatin (Barr, M. L. 1965). Doch variiert die Dichte der Geschlechtschromatine eines Präparates bereits von Zelle zu Zelle (Moore, K. L. und Barr, M. L. 1955). Sogar in verschiedenen lebenden Zellen einer Gewebekultur sind die Geschlechtschromatine unterschiedlich dicht (Schwarzacher, H. G. 1964).

Manches Geschlechtschromatin zeigt in sich Bereiche verschiedener Dichte, so daß der Eindruck eines zweigeteilten Körperchens entsteht (Wolf-Heidegger, G. 1958; Miles, C. P. 1960; Klinger, H. P. 1962).

Lage des Geschlechtschromatins

Das Geschlechtschromatin liegt meist an der Innenfläche der Zellkernmembran, und zwar hängt seine genaue Lage an der Membran von der Gestalt des Kernes ab. In den kugeligen Kernen von Schnitten liegen sie irgendwo an der Kerninnenfläche, wogegen sie sich in den lang ausgezogenen Zellkernen z. B. von Zellausstrichen häufig polständig finden (Hinrichsen, K. 1963). In Nervenzellen liegen die Geschlechtschromatine am Nucleolus oder frei im Kern (Barr M. L. und Bertram, E. G. 1949).

Die prozentuale Häufigkeit des Auftretens der Geschlechtschromatine

Die prozentuale Häufigkeit der ein Geschlechtschromatin tragenden Zellkerne eines Präparates ist von vielen Faktoren abhängig. Die verschiedenen Gewebe eines Individuums zeigen geringe Unterschiede in der Häufigkeit der Geschlechtschromatine (Soost, H. J. 1962). Zwischen der Anzahl der Mitosen in einem Präparat und der Geschlechtschromatinfrequenz besteht ein umgekehrtes Verhältnis (Miles, C. P. 1960, Schnede, W. 1964). Taylor (1963) berichtet von Untersuchungen an Neugeborenen, daß Östrogene, Hydrocortison und ACTH die Geschlechtschromatinwerte senken oder verschwinden lassen. Die Häufigkeit des Geschlechtschromatins hängt weiterhin von der

Art der Präparation ab (Schnitt oder Ausstrich) (Barr, M. L. 1965). In Mundschleimhaut ist die Häufigkeit niedrig. Fixierte Präparate zeigen relativ mehr Geschlechtschromatine als Lebendpräparate (Schwarzacher, H. G. 1964). Auch die Färbetechnik ist von Einfluß. Schließlich spielt die Art der Auswertung eine Rolle. So ist die weite Schwankungsbreite von Angaben der durchschnittlichen relativen Geschlechtschromatinhäufigkeit bei normalen Frauen erklärbar. Mundschleimhaut normaler weiblicher Individuen zeigt nach Kosenow (1957) 11 %, nach Soost, H. J. (1962) $30,8 \pm 0,7$ % und nach Moore, K. L. und Barr, M. L. (1965) 40 - 60 % geschlechtschromatinhaltige Zellkerne.

Geschlechtschromatine in Präparaten von männlichen Individuen

Bei der ersten Beschreibung des Sexchromatins in weiblichen Zellkernen (Barr, M. L. und Bertram, E. G. 1949) wurde auf ein Chromatinkörperchen in männlichen Kernen hingewiesen, das eine der des Geschlechtschromatins in den weiblichen Zellen ähnliche Lage aufweist (Moore, K. L. und Barr, M. L. 1955; Miles, C. P. 1960). Man kann es aber nur sehr selten feststellen. Zudem ist es wesentlich kleiner als das Geschlechtschromatin, so daß an seiner Spezifität Zweifel bestehen.

Beziehung zwischen Geschlechtschromatin und X-Chromosom

Die Kenntnis der Morphologie des Geschlechtschromatins des Menschen führt zur Frage, was im Kern sich als Geschlechtschromatin denn darstelle. Seit der Entdeckung des Geschlechtsdimorphismus der Zellkerne wurde dieser auf die chromosomalen Unterschiede der Geschlechter bezogen (Barr, M. L. und Bertram, E. G. 1949). Es spricht für eine enge Beziehung zwischen dem Geschlechtschromatin und den Chromosomen, daß sich beide Strukturen färberisch gleich verhalten. Den Beobachtungen der Morphologie der Geschlechtschromatine müssen Untersuchungen über die Gestalt der Chromosomen und ihren Wandel während der Reduplikation und des Teilungsvorganges zur Seite gestellt werden.

Das heteropyknotische X-Chromosom

Ohno, S. und Mitarbeiter untersuchten Zellkerne in der frühen Prophase und zeigten, daß in männlichen Zellkernen alle Chromosomen isopyknotisch sind, während in weiblichen Kernen ein Chromosom mittlerer Größe heteropyknotisch erscheint. Sie nahmen an, daß dieses verdichtete Chromosom ein X-Chromosom sei und daß es während der ganzen Interphase verdichtet als Sexchromatin zu sehen sei (Ohno, S., Kaplan, W. D. und Kinosita, R. 1959; Ohno, S. und Hauschka, T. S. 1960). Ohno, S. und Makino, S. (1961) setzten in einer Arbeit an lebenden Zellen das Geschlechtschromatin der Interphase

in enge Beziehung zu einem in der Prophase kondensierten großen Chromosom, einem X-Chromosom. Hösli, P. (1963) beobachtete in lebenden Zellen, daß sich aus dem Geschlechtschromatin ein einzelnes Chromosom entwickelt, welches in die Metaphasenplatte wandert.

Autoradiographische Arbeiten an Gewebeskulturzellen ergaben, daß es ein X-Chromosom ist, welches im Arbeitskern heteropyknotisch liegt und sich erst spät und schneller als die anderen Chromosomen entspindelt und redupliziert (Gilbert, C. W., Muldal, S., Lajtha, L. G. und Rowley, J. 1962; Muldal, S. 1962).

Ohno, S. (1963) und Hösli, P. (1963) beschrieben zwei Haupttypen von Geschlechtschromatinen in diploiden Zellen von rasch wachsenden Geweben: einen kleinen und einen großen Typ, die als kondensierte X-Chromosomen der Prophase bzw. der Telophase gedeutet werden.

Beziehung zwischen der Anzahl der X-Chromosomen einer Zelle und ihrer Geschlechtschromatine

Normale weibliche diploide Zellkerne zeigen in gewisser Häufigkeit ein Geschlechtschromatin. Wenn Geschlechtschromatin und X-Chromosom zusammenhängen, müssen sich Unregelmäßigkeiten der Anzahl der X-Chromosomen in der Anzahl der Geschlechtschromatinkörperchen niederschlagen.

Die Anzahl der Geschlechtschromatine und der X-Chromosomen in Zellkernen von Patienten mit nur einem bis mehreren X-Chromosomen im Karyotyp (Barr, M. L. 1959; Ford, C. E. 1961; Harnden, D. G. und Jacobs, P. A. 1961; Sohval, A. R. 1961, 1963; Moore, K. L. 1962) stehen in der Tat im Zusammenhang. Als allgemeine Regel gilt: In einer diploiden Zelle treten nicht mehr Geschlechtschromatine auf als eins weniger denn die Anzahl der X-Chromosomen (z. B. Schwarzacher, H. G. 1964).

Diploider Karyotyp mit einem X-Chromosom

Jacobs, P. A. et al. (1961) fanden in der Mundschleimhaut von fünf Patienten mit XO-Geschlechtschromosomen keine Geschlechtschromatine; ebenso waren Mundschleimhautausstriche von Patienten mit XO/XY - und XO/XYY - Mosaik chromatinnegativ. Ford, C. E. et al. 1959 beschrieben einen Patienten mit Turner-Syndrom. Die untersuchten Karyotypen zeigten XO-Komplexe, die Zellen der Mundschleimhaut wiesen keine Geschlechtschromatine auf. Die Zellkerne bei einer Geschlechtschromosomenkonstitution XO (Turner), XY (normale männliche Konstitution, männlicher Pseudohermaphroditismus, testiculäre Feminisierung) und XYY sind geschlechtschromatinnegativ (z. B. Barr, M. L. 1959, 1961, 1962, 1965; Lenz, W. und Pfeiffer, R. A. 1963;

Miller, O.J. 1963).

Diploider Karyotyp mit zwei und mehreren X-Chromosomen

Bei Individuen mit XX-Komplex (normal weiblich, AGS), XXY - und XXYY - Klinefelnern treten geschlechtschromatinpositive Zellkerne auf. Man findet bei Frauen mit drei X-Chromosomen, XXXY - und XXXYY - Klinefelnern zweifach sexchromatinpositive Kerne. Barr, M. L. und Mitarbeiter (1965) zählten bei sieben Frauen mit drei X-Chromosomen 11 % der Zellkerne ohne Geschlechtschromatin, 42 % mit einem und 47 % mit zwei Geschlechtschromatinen. Die Untersuchung von Mundschleimhaut und Hautbiopsien zweier XXXX-Frauen und zweier XXXXY-Klinefelter (Barr, M. L. 1965) ergab: 7 % der Zellen geschlechtschromatin-negativ, in 23 % ein, in 47 % zwei und in 23 % der Zellen drei Sexchromatine. Fraccaro, M. und Lindsten, J. (1960) beschrieben ein Kind mit XXXXY-Chromosomenkonstitution. In 148 von 300 Zellen dieses Patienten wurden drei Geschlechtschromatine gefunden. Grumbach, M. M. et al. (1963) berichteten von einer Patientin mit fünf X-Chromosomen, deren Zellkerne aus Hautkultur in 10 % vier Geschlechtschromatine aufwiesen.

Polyploide Kerne

Klinger, H. P. (1958) untersuchte Amnionzellen menschlicher Embryonen und fand, daß der DNS-Gehalt des Geschlechtschromatins in weiblichen Kernen, die einen relativ zum normalen diploiden Kern doppelten DNS-Gehalt aufwiesen, auch dem DNS-Gehalt zweier normaler Geschlechtschromatine entsprach.

Gestaltliche Beziehung zwischen Geschlechtschromatin und X-Chromosom

Drei Patientinnen mit morphologisch vom Normalen abweichenden X-Chromosomen bei normaler Chromosomenzahl wurden von Jacobs, P. A. et al. (1961) beschrieben: Zwei Fälle mit einem X-Bruchstück und ein Fall mit einem vergrößerten X. In den Fällen mit X-Fragment wurde ein verkleinertes Geschlechtschromatin gefunden. Das Geschlechtschromatin des Falles mit vergrößertem X-Chromosom war ungewöhnlich groß.

Bamford, S. B., Cassin, C. M. und Mitchell, B. S. (1963) untersuchten Größe und Gestalt von Drumstickanhängen reifer neutrophiler Leukocyten und von Sexchromatinen bei Patientinnen mit morphologisch veränderten Geschlechtschromosomen. Drumsticks und Geschlechtschromatine wurden nach dem Aussehen in Klassen eingeteilt und gezählt. Bei einer Patientin mit Deletion des langen Armes des X-Chromosoms und wahrscheinlichem XX/XX_D-Mosaik wurden zur Hälfte anomal kleine Drumsticks und Sexchromatine gefunden.

Keine Drumsticks, wohl aber 8 % Sexchromatine wurden bei einer Patientin gezählt, deren eines X-Chromosom eine Deletion des langen Armes aufwies. In den Fällen mit X-Isochromosom im Geschlechtschromosomenkomplex wurden vergrößerte Drumsticks festgestellt. In Fällen mit dreifachem Mosaik $XO/XX/XX_D$ fand man eine Korrelation zwischen der Variationsbreite der Drumsticks- und der Chromosomengröße.

Lindsten, J. (1963) maß die Flächen der Kerne und der Sexchromatine in Mundschleimhautzellen von normalen Kontrollpersonen und von Patienten mit strukturellen Anomalien der X-Chromosomen. Eine Größenbeziehung zwischen den Mittelwerten der Flächen der Sexchromatine und der Kerne bei einzelnen Patienten wurde nicht gefunden. Bei Patienten mit mutmaßlichem Isochromosom (XX_J) und (XO/XX_J) waren die Mittelwerte der Flächen der Geschlechtschromatine größer als bei den Kontrollflächen; aber nur in zwei Fällen signifikant. Die mittlere Fläche der Sexchromatine bei einem Patienten mit vermutlicher X-Deletion war kleiner als normal; der Unterschied war nicht signifikant.

Taft, P. D., Dalal, K. P., McArthur, J. W. und Worcester, J. (1965) verglichen bei Patientinnen mit einem morphologisch veränderten X-Chromosom die Größe des Geschlechtschromatins mit der des X-Chromosoms und fanden eine direkte Proportionalität. Bei zwei Individuen mit Iso-X-Chromosom waren die Sexchromatine signifikant größer als normal, bei zwei Fällen mit Deletion des X-Chromosoms signifikant kleiner.

Klinger, H. P., Lindsten, J., Fraccaro, M., Barrai, I. und Dolinar, Z. J. (1965) bestimmten an Patienten mit strukturell abnormem X-Chromosom einerseits photometrisch den DNS-Gehalt der Sexchromatine aus Mundschleimhautzellen und aus Zellen von Hautkulturen, andererseits planimetrisch die Flächen der Sexchromatine von Mundschleimhautzellen. In Hautkulturzellen von fünf Frauen mit vermutlichem Isochromosom des langen Armes des X-Chromosoms fand man einen höheren DNS-Gehalt der Sexchromatine als bei normalen Frauen. Die mittleren DNS-Werte von Patienten mit Deletion des langen Armes des X-Chromosoms oder mit einem Isochromosom des kurzen Armes des X-Chromosoms, mit Deletion des kurzen Armes des X und eines Patienten mit Ring-X waren signifikant niedriger als die Kontroll-Werte.

Der DNS-Gehalt der Sexchromatine von XY/XXY , $XXXY$ - und $XXXXY$ -Klinefeltern zeigten keine Abweichung von Normalwerten. Der mittlere DNS-Gehalt der Sexchromatine und die mittleren Sexchromatinflächen in Mundschleimhaut von Patienten mit strukturellen Abnormalitäten der X-Chromosomen zeigten auch ein direktes Verhältnis zur Größe der X-Chromosomen,

aber die Werte variierten stärker und die Unterschiede zu Kontrollwerten waren statistisch nicht signifikant.

Die Theorie des Geschlechtschromatins

Die Kenntnisse der Morphologie des Geschlechtschromatins und der Chromosomen und schließlich der numerischen und morphologischen Beziehung zwischen Geschlechtschromatin und X-Chromosom lassen sich zu einer Theorie des Geschlechtschromatins zusammenfassen. Das Geschlechtschromatin im weiblichen Zellkern wird nur von einem X-Chromosom oder einem Teil desselben gebildet. Dieses X-Chromosom ist im Arbeitskern verdichtet und ist genetisch inaktiv (Lyon, M. F. 1961). Die Inaktivierung des X-Chromosoms findet im frühen Embryonalstadium statt (Austin, C. R. 1962). Der Zufall entscheidet, ob das mütterliche oder das väterliche X inaktiviert wird (Lyon, M. F. 1961). Ist die Entscheidung gefallen, vererben väterliches und mütterliches X ihre festgelegte Funktion (Grumbach, M. M. und Morishima, A. 1962; Davidson, R. G. 1964). Im männlichen Chromosomensatz ist das X nie inaktiviert und in Zellen mit mehr als zwei X-Chromosomen sind pro diploidem Satz alle X-Chromosomen außer einem inaktiviert. Befindet sich ein strukturell abnormes X-Chromosom im Zellkern, bildet immer dieses das Geschlechtschromatin (Klinger, H. P., Lindsten, J., Fraccaro, M., Barrai, J. und Dolinar, Z. J. 1965).

KRANKHEITSBILDER BEI ABERRATIONEN DER GESCHLECHTSCHROMOSOMEN

Die Aberrationen der Geschlechtschromosomenkonstitution äußern sich in charakteristischen Krankheitsbildern. Die Geschlechtschromosomen können in Zahl oder Struktur vom Normalen abweichen. Entweder besitzt jede Körperzelle die gleichen Geschlechtschromosomen oder ein Patient trägt zwei oder mehrere verschiedene Chromosomensätze (Mosaik).

Krankheitsbilder bei numerischen Aberrationen der X-Chromosomen

Auf einer numerischen Aberration beruht das Klinefelter-Syndrom. Es bildet sich bei Menschen aus, die in allen Zellkernen oder einem Teil die Geschlechtschromosomenkonstitution XXY tragen. Ebenso wurden Klinefelter-Syndrome bei XXXY- und XXXXY-Konstitution gefunden, ferner bei Mosaikbildungen XY/XXY, XX/XXY, XXXY/XXXXY. Entsprechend der Anzahl der X-Chromosomen sind die Zellen beim Klinefelter-Syndrom sexchromatin-positiv.

Das Turner-Syndrom tritt bei Menschen auf, die in allen Körperzellen oder einem Teil die Geschlechtschromosomenkonstitution XO tragen. Man kennt Turner bei X-Monosomie (XO), bei XO/XX-Mosaik und bei monosomem Isochromosom X_jO . Beim Turner-Syndrom findet man keine Sexchromatinkörperchen in den Zellen, wenn XO-Typ vorliegt, bei XO/XX-Mosaik findet man Sexchromatine dem Anteil der XX-Stammlinie im untersuchten Gewebe entsprechend.

Die Phänotypen von Menschen mit XO/XY-Mosaik variieren von weiblich bis männlich. Ihre Ausbildung hängt von der Verteilung der XO bzw. XY-Zellen im jeweiligen Individuum ab, da eine XO-Konstitution zu undifferenzierten Gonaden und weiblichem Habitus führt, XY aber zur Ausbildung von Testes und männlichem Äußerem.

Beim Bild der reinen Gonadendysgenese findet man normale XX-Geschlechtschromosomen. Die Patienten sind phänotypisch weiblich ausgerichtet. Sie sind groß und schlank und von eunuchoidem Habitus. Ihre Gonaden sind bindegewebig. Es besteht eine primäre Amenorrhoe. Individuen mit X-Trisomie zeigen keinen einheitlichen Phänotypus. Man findet von phänotypisch normalen Patienten alle Übergänge bis zu Patienten mit genitalen Störungen, von Menstruationsstörungen bis zu primärer Amenorrhoe. Bei manchen Patientinnen mit X-Trisomie arbeiten die Ovarien normal; einige hatten so-

gar chromosomal normale Kinder. Bei Frauen mit X-Tetra- und Pentasomie besteht eine ausgeprägte geistige Unterentwicklung.

Krankheitsbilder bei strukturellen Veränderungen der X-Chromosomen

Der Verlust eines Teils eines X-Chromosoms führt zur Ausbildung eines Turner-Syndroms. Dabei kann entweder der kurze oder der lange Arm verloren gegangen sein oder jeweils ein kurzer und ein langer. Möglicherweise bedingt nur der Verlust des kurzen Armes des X-Chromosoms die Ausbildung eines Turner-Syndroms (Junis, J.J. 1965).

Jacobs, P. A. et al. (1961) beschrieben Patientinnen mit primärer Amenorrhoe, die im Karyotyp X-Fragmente bzw. X-Isochromosomen aufwiesen.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

MATERIALBESCHREIBUNG

1. Es wurden die Geschlechtschromatine der Mundschleimhautzellen folgender Personen untersucht:
von 5 phänotypisch normalen erwachsenen weiblichen Personen
von 22 Patientinnen aus dem stationären Krankengut und der Ambulanz der I. Universitäts-Frauenklinik.
2. Aus den Lymphozyten von 3 der Kontrollpersonen, von zwei weiteren normalen Frauen und von den 22 Patientinnen wurde im Cytogenetischen Labor des Hämatologischen Instituts (Dr. Back) die Chromosomen gezüchtet und die X-Chromosomen autoradiographisch identifiziert.

AUSWAHL DER PATIENTINNEN

Von den Kranken, die in den Jahren 1962 - 1965 wegen Blutungsstörungen, Virilisierung oder genitaler Anomalien die I. Universitäts-Frauenklinik aufsuchten, wurden bei 96 Patientinnen die Geschlechtschromatine untersucht. Aus diesen wurden 22 Patientinnen nach dem Aspekt ihrer Geschlechtschromatine im Mikroskop und nach deren relativer Häufigkeit zur weiteren Untersuchung ausgewählt.

Die Kriterien der Auswahl waren:

1. abnorm groß oder abnorm klein erscheinende Geschlechtschromatine.
2. seltenes Auftreten der Geschlechtschromatine (unter 20 %), so daß Verdacht auf Mosaik bestand.
3. Fehlen von eindeutigen Sexchromatinen bei weiblichen Habitus; Eventuelle X-Bruchstücke, die so klein sind, daß sie kein von der normalen Chromatinstruktur differenzierbares Geschlechtschromatin bilden, sollten nicht übersehen werden.

ARBEITSMETHODE

1. Geschlechtschromatine

Die Epithelzellen der Mundschleimhaut wurden entnommen, indem mit der Kante eines Holzspatels kräftig über die Wangenschleimhaut gestrichen wurde. Das auf dem Spatel befindliche Material wurde sofort auf einen trockenen, mit Xylol fettfrei gemachten Objektträger gebracht und in einem Gemisch von Äther und absolutem Alkohol 1 : 1 eine Stunde lang fixiert. Von jeder Patientin wurden etwa vier Präparate angefertigt. Die Abstriche wurden nach der Methode von Klinger gefärbt.

1. 15 Min. in 95 %igem Alkohol
2. 3 Min. in 100 %igem Alkohol
3. 3 Min. in 1 %igem Celloidin (1 % Celloidin in einem Gemisch von Äther und absolutem Alkohol 1 : 1)
4. 10 Min. in 70 %igem Alkohol
5. Durch 50 %igen Alkohol durchführen
6. Durch Aqua destillata durchführen
7. Durch Aqua destillata durchführen
8. Hydrolyse 20 Min. in 5n HCL (20 - 24° C)
9. In Aqua destillata auswaschen
10. Wie 9.
11. Wie 9.

(Das destillierte Wasser sollte vor jeder Färbung wegen der Verunreinigung mit HCL erneuert werden)

12. 45 Min. in der Farblösung
13. In Aqua dest. auswaschen
14. In 50 %igem Alkohol auswaschen
15. In 70 %igem Alkohol, bis keine Farbwolken mehr abgehen
16. In 95 %igem Alkohol, bis keine Farbwolken mehr abgehen
17. 3 Min. in 100 %igem Alkohol
18. 3 Min. in 100 %igem Alkohol
19. 3 Min. in Xylol
20. 3 Min. in Xylol
21. Eindecken in Eukitt oder Canadabalsam

(Herstellung der Farblösung:

Michaelispuffer: 9,714 g Na-acetat x 3 H₂O und 14,714 g Na-barbiturat

werden in Aqua bidest. auf 500 ccm aufgefüllt.

28 ccm dieses Puffergemisches werden mit 32 ccm einer 0,1n HCL versetzt und auf 100 ccm mit Thioninlösung aufgefüllt, die durch Sättigung von 50 %igem Alkohol mit Thionin und anschließender Filtrierung hergestellt wird. pH 5,7 0,2).

Die gefärbten Abstriche wurden im Mikroskop mit 1000-facher Vergrößerung und Ölimmersion betrachtet. Zur Feststellung des Prozentsatzes geschlechtschromatinpositiver Zellen wurden pro Individuum 200 - 500 Zellen ausgezählt. Von jeder Person wurde eine Anzahl chromatinpositiver Zellkerne (31 - 94) ohne Rücksicht auf die Größe der jeweiligen Geschlechtschromatine fotografiert. Sowohl zur Auszählung als auch zur photographischen Auswertung wurden nur gut ausgebreitete und gut erhaltene Kerne benutzt; beschädigte, pyknotische, gefaltete oder von Bakterien überdeckte Kerne wurden übergangen.

Es wurde das Zeiss-Photomikroskop benutzt. Die Präparate wurden mit dem 100x Objektiv u. Ölimmersion bei einer Gesamtvergrößerung von 1000 fach Adox KB 14 fotografiert. Je ein Kern beanspruchte ein Negativ. Die Filme wurden mit Rodinal 1 : 30 6 Minuten lang entwickelt und in sauerem Fixiersalz fixiert. Die Negative wurden mit dem Vergrößerungsapparat Fokomat von Leitz 9,5 x auf Agepe-Papier vergrößert. Mit dem ersten Film war ein Zeiss-Mikromaßstab fotografiert und dieser 9,5 x auf Agepe-Papier vergrößert worden. Mit Hilfe des Maßstabnegativs und des Maßstabpositivs wurde der Apparat jeweils zu Beginn der Vergrößerungsarbeiten genau eingestellt.

Die Bilder der Geschlechtschromatine auf den so erhaltenen Positiven waren insgesamt 9500 fach vergrößert. Ihre Flächen wurden mit Planimeter K 114 der Firma Ott, Kempten, gemessen. Jedes Geschlechtschromatin wurde dreimal gemessen und der arithmetische Mittelwert zur Berechnung der Parameter der Stichproben für jede einzelne Person verwandt.

2. Chromosomen

Zur Chromosomenzüchtung aus den Lymphozyten wurde den untersuchten Personen jeweils 20 ccm Blut aus der Cubitalvene entnommen und dem Cytogenetischen Labor des Hämatologischen Instituts überbracht.

3. Statistische Berechnungen

Die statistischen Berechnungen der Tabellen der Geschlechtschromatinflächen wurden als Schätzungen auf Grund gruppierter Stichproben nach folgenden Formeln durchgeführt:

der Mittelwert $\bar{x} = \bar{x}' + d \frac{\sum f \cdot x}{N}$ (496)

die mittlere quadratische Streuung der Einzelwerte
(Standardabweichung)

$$s = \sqrt{\frac{d^2}{N-1} \left(\sum f \cdot x^2 \right) - \left(\frac{\sum f \cdot x}{N} \right)^2}$$
 (497)

die mittlere quadratische Streuung der Mittelwerte

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{N}}$$
 (495)

Die Signifikanzberechnung wurde als Vergleich der Mittelwerte zweier Stichproben einer normalverteilten Bevölkerung durchgeführt.

Prüfquotient
$$\frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s^2}{N_1} + \frac{s^2}{N_2}}}$$
 (615)

(Formeln 496, 497, 495 und 615 aus dem Kapitel "Statistik" der Dokumenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen, 6. Auflage 1960).

UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

1. Ergebnisse der Untersuchungen an den phänotypisch normalen Frauen.

Wir stellten diese Untersuchungen zur Gewinnung von Normalwerten an. Die Kontrollpersonen waren von 23 bis 30 Jahre alt, im Durchschnitt 26,6 Jahre.

a) Zuerst bestimmten wir die normale Häufigkeit des Auftretens der Geschlechtschromatine (Tab. I).

Tabelle I gibt die Prozentsätze des geschlechtschromatinpositiven Mundschleimhautzellkerne in den Präparaten unserer Kontrollpersonen wieder. Der Durchschnitt wurde zu 26,4 % bestimmt.

TABELLE I

Prozentsatz sexchromatinpositiver Mundschleimhautzellen der Kontrollpersonen

Person	N	SC in %
G. R.	300	22
W. E.	200	25
H. E.	200	26
A. S.	200	27
R. U.	200	32
Durchschnitt		26,4

Anm.

N = Anzahl der gezählten Zellen

SC= Sexchromatin

b) Die Flächenausmaße der Geschlechtschromatine (Tab. II)

Die Ergebnisse der Flächenmessung der Geschlechtschromatine sind in Tabelle II dargestellt. N ist die Anzahl der pro Person fotografierten und gemessenen Geschlechtschromatine. Die unter MW angegebenen Zahlen bedeuten die Flächen der auf den Fotos in 9500 facher Vergrößerung abgebildeten Sexchromatine in cm^2 . Mittlere quadratische Streuung der Flächen (Standardabweichung) und der Mittelwerte sind angegeben (mqSF und mqSM).

Aus den Werten für jede einzelne Frau wurden Gesamtwerte nach folgenden Formeln berechnet:

$$\text{MW ges.} = \bar{X} \text{ ges.} = \frac{\sum x_i \cdot N_i}{\sum N_i}$$

$$\text{mqSF ges.} = S \text{ ges.} = \sqrt{\frac{\sum S_i^2 (N_i - 1)}{\sum N_i - 1}}$$

$$\text{mqSM ges.} = S_{\bar{x}} \text{ ges.} = \frac{S_{\text{ges.}}}{\sqrt{\sum N_i}}$$

Die wirkliche durchschnittliche Größe der Geschlechtschromatine der normalen Frau wurde aus dem Gesamtmittelwert der Tabelle II zu $0,554 \mu^2 \pm 0,007$ (Standardabweichung) bestimmt.

TABELLE II

Ausmaße der Flächen der Geschlechtschromatine bei den Kontrollpersonen

Person	N	MW	mqSF	mqSM
G. R.	61	0,477	0,122	0,016
W. E.	65	0,497	0,123	0,015
H. E.	31	0,504	0,080	0,014
A. S.	66	0,508	0,092	0,011
R. U.	59	0,512	0,112	0,015
Gesamt:	282	0,499	0,109	0,006

Anm.

N = Größe der Stichprobe

MW = arithmetisches Mittel der Stichprobe in cm^2

mqSF = mittlere quadratische Streuung der Flächen

mqSM = mittlere quadratische Streuung der Mittelwerte

c) Armverhältnisse der X-Chromosomen (Tabelle III)

Diese Werte entstammen der Inaugural-Dissertation von Jörg. J. Zur zahlenmäßigen Charakterisierung der X-Chromosomen wurde das Längenverhältnis von langem zu kurzem Arm der X-Chromosomen gewählt. Tabelle III gibt die Ergebnisse der Chromosomenmessung von drei unserer Kontrollpersonen (G.R., W.E. und R.U.) und von zwei weiteren Normalfällen wieder (S.C. und G.O.). N bezeichnet die Anzahl der gemessenen Chromosomen. Unter MW stehen die Armverhältniszahlen. Mittlere quadratische Streuung der Armverhältnisse und der Mittelwerte sind angegeben (mqSV und mqSM). Aus den Werten für die einzelnen Personen sind Gesamtwerte als gewogene Mittel berechnet.

TABELLE III

Längenverhältnis von langem zu kurzem Arm der X-Chromosomen bei Kontrollpersonen

Person	N	MW	mqSV	mqSM
G. R.	20	1,480	0,135	0,030
W. E.	31	1,490	0,120	0,021
R. U.	23	1,462	0,144	0,030
S. C.	25	1,504	0,148	0,029
G. O.	30	1,514	0,135	0,024
Gesamt	129	1,492	0,139	0,012

N	=	Größe der Stichprobe
MW	=	arithmetisches Mittel der Stichprobe
mqSV	=	mittlere quadratische Streuung der Verhältnisse
mqSM	=	mittlere quadratische Streuung der Mittelwerte

Anm. :

$\bar{x}$	=	Mittelwert für eine Person
N_i	=	Anzahl der ausgewerteten Geschlechtschromatine einer Person
S_i	=	mqSF für eine Person
$S_{\bar{x}i}$	=	mqSM für eine Person

berechnet.

2. Ergebnisse der Untersuchungen an den Patientinnen

Die untersuchten Patientinnen waren von 15 bis 36 Jahre alt, ihr Durchschnittsalter betrug 22,15 Jahre.

a.) Die Häufigkeit des Auftretens der Geschlechtschromatine (Tab. IV)

Die Zellen von 18 Patientinnen wiesen Geschlechtschromatine auf, und zwar in verschiedenen Häufigkeiten und von unterschiedlicher Größe. Vier Patientinnen waren geschlechtschromatinnegativ. Tabelle IV zeigt die prozentuale Häufigkeit geschlechtschromatintragender Zellen.

TABELLE IV

Prozentsatz sexchromatinpositiver Mundschleimhautzellen der Patientinnen und Chromosomenzahl der Lymphozyten der Blutkultur.

Patientinnen	N	SC%	Mit.	Chr.	41	42	43	44	45	46	47	48
K. B.	200	20	25					2	4	18	1	
M. A.	300	15	20		1			1		17	1	
W. R.	250	25	10					2		8		
G. H.	300	18	20		1				2	14	3	
T. G.	200	25	10						1	9		
H. T.	200	35	20					2		13	5	
B. K.	300	35	10						1	9		
R. E.	400	15	20		2			1	11	6		
G. R.	200	25	10						1	8	1	
F. D.	200	18	10							8	2	
B. R.	200	22	10							10		
A. R.	200	30	10						1	8	1	
S. G.	300	30	10							9	1	
S. A.	300	30	10							10		
W. E.	200	25	10						1	9		
W. G.	200	14	30				1	2	19	6	1	1
J. U.	500	5	30				1	2	2	25		
D. R.	200	6	31					2	28	1		
P. R.	200	neg.	10						1	9		
Md. A.	200	neg.	60						17	43		
S. U.	200	neg.	32						29	3		
T. C.	200	neg.	10						10			

Anm. N = Anzahl der ausgewerteten Mundschleimhautzellen

SC = Sexchromatin

Mit. = ausgezählte Mitosen der Lymphozytenkulturen

Chr. = Anzahl der Chromosomen in einer Mitose

Mundschleimhautzellen der chromatinpositiven Patientinnen und führt die geschlechtschromatinnegativen Patientinnen auf.

Unter den sexchromatinpositiven Patientinnen finden sich vier, deren Chromatinhäufigkeit nicht höher als 15 % liegt (M.A., W.G., J.U., D.R.), drei Patientinnen mit einer Chromatinhäufigkeit bis 20 % und 11 Patientinnen haben über 20 % sexchromatinpositive Mundschleimhautzellen.

b.) Die Anzahl der Chromosomen in den Lymphozyten (Tab. IV)

Die Werte wurden der Inaugural-Dissertation von Jörg, J. entnommen. Auf der rechten Seite der Tabelle IV sind für jede Patientin die Zahlen der Chromosomen einer Reihe ausgewerteter Mitosen aufgeführt.

Unter den geschlechtschromatinpositiven Patientinnen befinden sich zwei, deren Lymphozytenkerne in der Mehrzahl 45 Chromosomen aufweisen (Zellmosaik) (R.E. und W.G.). Die Zellkerne der Patientin D.R. zeigen mit wenigen Ausnahmen nur 45 Chromosomen, was dem Karyotyp eines Turner-Syndroms entspricht. Ebenso verhält es sich bei den chromatinnegativen Patientinnen S.U. und T.C.

Die geschlechtschromatinpositive Patientin J.U. hat in der Mehrzahl 46 Chromosomen pro Zelle, unter denen sich aber ein X-Bruchstück befindet. X-Chromosomenfragmente wurden auch bei den geschlechtschromatinnegativen Patientinnen P.R. und Md.A. gefunden. Im letzteren Fall besteht zusätzlich ein Zellmosaik.

c.) Die Flächenausmaße der Geschlechtschromatine (Tab. V)

In Tabelle V sind die Ergebnisse der Chromatinmessung der 18 geschlechtschromatinpositiven Patientinnen aufgeführt. N gibt die Anzahl der Geschlechtschromatine pro Patientin an, die gemessen wurden und aus dem das entsprechende Flächenmittel berechnet wurde. Die Werte der Kolonne MW bedeuten die Flächen der fotografisch in 9500 facher Vergrößerung abgebildeten Geschlechtschromatine in cm^2 . Die mittlere quadratische Streuung der Flächen (Standardabweichung) und der Mittelwerte sind ebenfalls angegeben (mqSF und mqSM).

Die wirkliche durchschnittliche Größe der gemessenen Geschlechtschromatine schwankt von $0,655 \mu^2 \pm 0,024$ für Patientin K.B. bis $0,266 \mu^2 \pm 0,013$ für Patientin D.R.

TABELLE V

Ausmaße der Flächen der Geschlechtschromatine bei den Patientinnen

Patientinnen	N	MW	mqSF	mqSM
K. B.	59	0,591	0,176	0,022
M. A.	36	0,580	0,156	0,026
W. R.	32	0,533	0,116	0,020
G. H.	33	0,508	0,139	0,024
T. G.	31	0,506	0,106	0,019
H. T.	64	0,476	0,115	0,014
B. K.	27	0,474	0,148	0,028
R. E.	52	0,437	0,113	0,016
G. R.	94	0,435	0,127	0,013
F. D.	60	0,375	0,129	0,017
B. R.	66	0,370	0,101	0,012
A. R.	68	0,369	0,095	0,011
S. G.	60	0,353	0,077	0,010
S. A.	67	0,333	0,082	0,010
W. E.	70	0,327	0,071	0,009
W. G.	58	0,314	0,085	0,011
J. U.	41	0,241	0,086	0,013
D. R.	32	0,240	0,066	0,012

Anm.

N = Größe der Stichprobe

MW = arithmetisches Mittel der Stichprobe

mqSF = mittlere quadratische Streuung der Flächen

mqSM = mittlere quadratische Streuung der Mittelwerte

d.) Armverhältnisse der X-Chromosomen (Tab. VI)

Die Werte sind der Inaugural-Dissertation von Jörg, J. entnommen. Bei 14 Patientinnen konnten die autoradiographisch markierten X-Chromosomen aus den Lymphozyten vermessen werden. Tabelle VI gibt für jede Patientin das durchschnittliche Verhältnis der Längen des langen und des kurzen Armes der X-Chromosomen wieder, weiterhin die mittlere quadratische Streuung der Verhältnisse (Standardabweichung) und der Mittelwerte.

Von den geschlechtschromatinpositiven Patientinnen konnten für R. E. und W. G. infolge der Mosaikbildung keine Messungen ausgeführt wer-

den. Bei den Patientinnen J. U. und P. R. konnte vom X-Chromosomenbruchstück kein Armverhältnis gebildet werden. Die Patientin Md. A. zeigt ein X-Chromosomenbruchstück und Mosaikbildung, so daß eine Messung der Armverhältnisse ebenfalls nicht möglich war. Die Patientinnen D. R., S. U. und T. C. weisen als Geschlechtschromosomenmuster XO auf.

TABELLE VI

Längenverhältnis von langem zu kurzem Arm der X-Chromosomen der Patientinnen

Patientin	N	MW	mqSV	mqSM
K. B.	26	1,415	0,140	0,027
M. A.	23	1,431	0,160	0,033
W. R.	20	1,514	0,205	0,045
G. H.	20	1,526	0,181	0,040
T. G.	21	1,548	0,192	0,041
H. T.	31	1,522	0,135	0,024
B. K.	26	1,538	0,086	0,016
R. E.	--	-----	-----	-----
G. R.	26	1,517	0,097	0,019
F. D.	29	1,638	0,141	0,028
B. R.	29	1,527	0,171	0,031
A. R.	31	1,520	0,157	0,028
S. G.	31	1,616	0,160	0,028
S. A.	31	1,545	0,131	0,023
W. E.	33	1,577	0,153	0,026
W. G.	--	-----	-----	-----
J. U.	--	-----	-----	-----
D. R.	--	-----	-----	-----

N = Stichprobenumfang

MW = arithmetisches Mittel der Stichprobe

mqSV = mittlere quadratische Streuung der Verhältnisse

mqSM = mittlere quadratische Streuung der Mittelwerte

3. Vergleich der Untersuchungsergebnisse bei den Patientinnen mit den Kontrollwerten (Signifikanztest, Tab. VII)

Wir prüften nun die Befunde der Geschlechtschromatinflächen bzw. der X-Chromosomenarmverhältnisse für jede Patientin an den Vergleichswerten, die aus den Werten der Kontrollpersonen errechnet worden waren, statistisch auf ihre Aussage hin. Auf diese Weise stellten wir fest, ob einige unserer Patientinnen mit hoher Wahrscheinlichkeit abnorm große oder abnorm kleine Geschlechtschromatine aufweisen bzw. anomale X-Chromosomen besitzen, wie es nach dem mikroskopischen Bild vermutet war.

TABELLE VII

Signifikanz der Unterschiede der Geschlechtschromatinflächen und der Chromosomenarmverhältnisse der Patientinnen von der Norm

Patientin	FM	c	p	VM	t	p
K.B.	0,591	4,0351	0,001	1,415	2,6550	0,01
M.A.	0,580	3,0000	0,01	1,431	1,7428	--
W.R.	0,533	1,4285	--	1,514	-----	--
G.H.	0,508	0,3600	--	1,526	-----	--
T.G.	0,506	0,3517	--	1,548	-----	--
H.T.	0,476	1,5333	--	1,522	-----	--
B.K.	0,474	0,8621	--	1,538	-----	--
R.E.	0,437	3,6471	0,001	(---)	(-----)	(--)
G.R.	0,435	4,5714	0,001	1,517	-----	--
F.D.	0,375	6,8889	0,001	1,638	4,8666	0,001
B.R.	0,370	9,9231	0,001	1,527	-----	--
A.R.	0,369	10,0000	0,001	1,520	-----	--
S.G.	0,353	12,1667	0,001	1,616	4,1333	0,001
S.A.	0,333	13,8333	0,001	1,545	2,1200	0,05
W.E.	0,327	15,6364	0,001	1,577	3,0350	0,01
W.G.	0,314	14,2308	0,001	(---)	(-----)	(--)
J.U.	0,241	18,4286	0,001	(---)	(-----)	(--)
D.R.	0,240	19,9231	0,001	(---)	(-----)	(--)

FM = mittlere Geschlechtschromatinfläche in cm^2

VM = mittleres Chromosomenverhältnis

a.) Vergleich der Flächenausmaße der Geschlechtschromatine (Tab. VII)

Der Tabelle VII ist zu entnehmen, wie hoch die Signifikanz des Unterschiedes zwischen dem als normal bestimmten Flächenmittel und dem Flächenmittel der einzelnen Patientinnen ist. Die Signifikanzberechnung wurde als Vergleich der Mittelwerte zweier Stichproben einer normalverteilten Bevölkerung im Differenzverfahren durchgeführt.

$$\text{Prüfquotient} = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{N_1} + \frac{S_2^2}{N_2}}} \quad (615)$$

In der Kolonne c stehen die der Chromatinstichprobe der jeweiligen Patientinnen entsprechenden Prüfquotienten. Die als p bezeichneten Zahlen stellen die jeweiligen Wahrscheinlichkeiten dar.

5 unter 18 Patientinnen zeigen eine mittlere Flächenausdehnung ihrer Geschlechtschromatine, die an Hand der vorliegenden Stichproben keinen statistisch sicheren Unterschied von der als normal bestimmten Flächenausdehnung des Geschlechtschromatins aufweist (W. R., G. H., T. G., H. T. und B. K.).

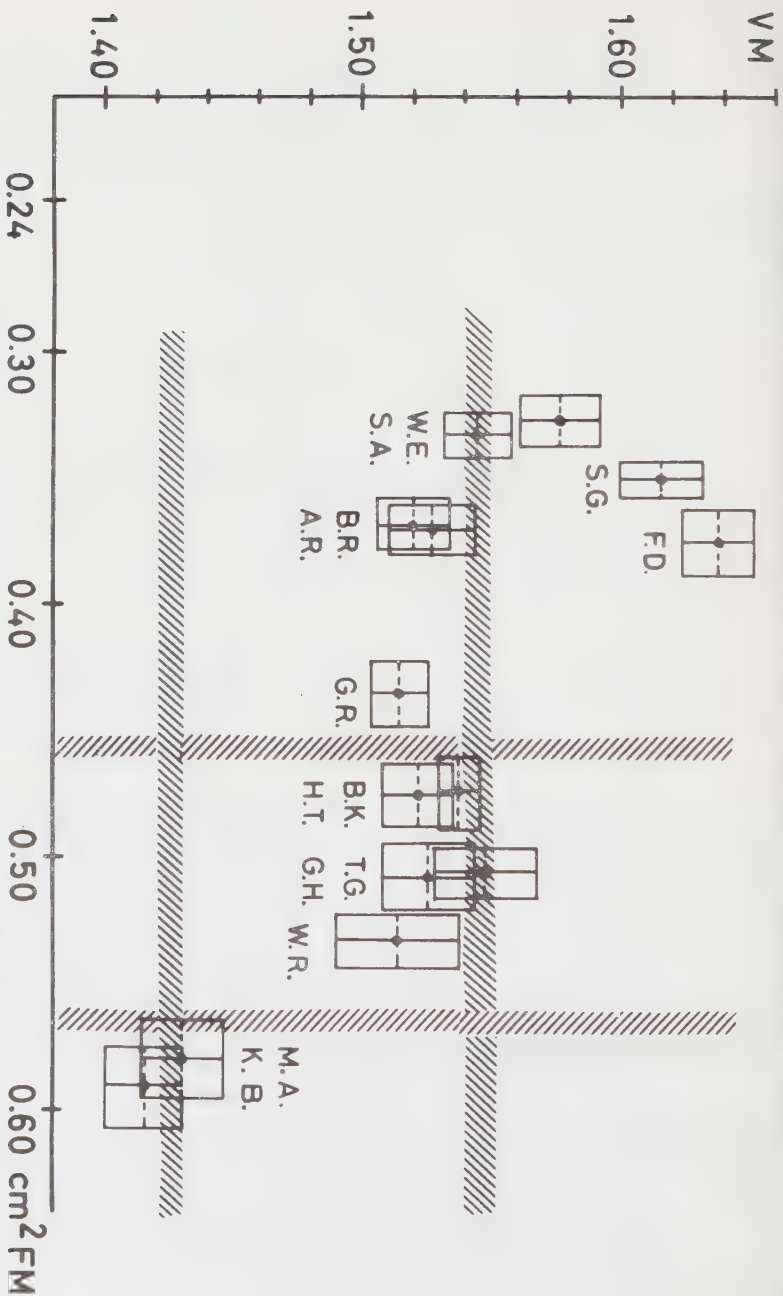
Die mittleren Geschlechtschromatinflächen von zwei Patientinnen (K. B. und M. A.) sind an Hand der vorliegenden Stichproben bei einer Signifikanzwahrscheinlichkeit von 0,001 bzw. 0,01 größer als die als normal bestimmte Fläche des Geschlechtschromatins.

Bei den übrigen 11 Patientinnen findet man an Hand der vorliegenden Stichproben, daß ihre Geschlechtschromatine bei einer Signifikanzwahrscheinlichkeit von 0,001 signifikant kleiner sind als das als normal bestimmte Geschlechtschromatin.

b.) Vergleich der Chromosomenverhältniszahlen (Tab. VII)

Des weiteren gibt Tabelle VII die Signifikanzberechnung der Chromosomenarmverhältnisse wieder. Die Werte stammen aus der Inauguraldissertation von Jörg, J. In Kolonne t stehen die Prüfquotienten, p gibt die jeweiligen Signifikanzwahrscheinlichkeiten an.

Von den 14 Patientinnen, deren Chromosomenverhältnisse bestimmt werden konnten, zeigen 9 (M. A., W. R., G. H., T. G., H. T., B. K., G. R., B. R. und A. R.) Armverhältnisse, die sich an Hand der vorliegenden Stichproben nicht statistisch sicher vom als normal bestimmten Armverhältnis unterscheiden.



Zweidimensionale graphische Darstellung der Mittelwerte und Streuungen von Flächenmaß und Längenverhältnis.

Die schraffierten Bereiche trennen Annahme- und Verwerfungsbereiche bei den unter 3a und 3b beschriebenen Tests.

Das für Patientin K. B. bestimmte Chromosomenverhältnis ist bei verwandter Signifikanzwahrscheinlichkeit von 0,01 kleiner als das Normverhältnis.

Bei 4 Patientinnen findet man an Hand der vorliegenden Stichproben das Chromosomenarmverhältnis größer als normal, und zwar mit Signifikanzwahrscheinlichkeiten von 0,05 bzw. 0,01 bzw. 0,001.

4. Klinische Befunde der Patientinnen

Wir werteten die Krankenblätter der Patientinnen aus und fügten den klinischen Befunden der Patientinnen die in unseren Untersuchungen erhobenen Befunde bei (SC = Sexchromatine in %; SF = Sexchromatin-Fläche).

K.B. 15 Jahre. Minderwuchs. Adipositas. Striae. Kleiner Uterus. Primäre 293/65 Amenorrhoe.

SC 20 %; SF $0,591 \text{ cm}^2 \pm 0,022$

M.A. 19 Jahre. Kleinwuchs. Adipositas. Mammae ausgebildet, weiblicher 231/64 Behaarungstyp. "Menarche" und einzige Blutung mit 16 Jahren. Äußeres Genitale unauffällig. Vagina 1 cm lang, kein Uterus zu tasten, daumen-große Resistenz im Becken rechts, möglicherweise ein Ovar. RR 135/90. 17-Keto-Steroide 21,4 mg/24 Std. SC 15 %, SF $0,580 \text{ cm}^2 \pm 0,026$

W.R. 22 Jahre. Kleinwuchs 140 cm, Adipositas 65 kg, Ovarialinsuffizienz, 3405/65 Menarche mit 10 Jahren, sehr unregelmäßige Periode, atrophischer Uterus, Adnexe nicht beurteilbar. Vaginalsmear zeigt mittlere Follikelhormonwirkung. RR 140/90. 17-Keto-Steroide 10,9 mg/24 Std. SC 25 %, SF $0,533 \text{ cm}^2 \pm 0,020$

G.H. 21 Jahre. Stark behaarte Beine, Barba. Menarche mit 13 Jahren. Seit 1447/65 9 Monaten unregelmäßige Periode. Hypoplastischer, gestreckter Uterus, bohngroße Ovarien. Tuben und Parametrien unauffällig. Pregnan diol 2,0 mg. SC 18 %, SF $0,508 \text{ cm}^2 \pm 0,024$

T.G. 21 Jahre. Menarche mit 10,5 Jahren, regelmäßige Periode. Normale 4447/65 sekundäre Geschlechtsmerkmale, normales äußeres Genitale, Hirsutismus, kleiner, derber Uterus, taubeneigroße Resistenz im Douglasschen Raum. 17-Keto-Steroide 6,8 mg/24 Std. SC 25 %, SF $0,506 \text{ cm}^2 \pm 0,019$

- H.T. 3643/65 15 Jahre. Minderwuchs 132 cm, geringe Schambehaarung, normale Mammae. Menarche mit 14 Jahren. Daumenendgliedgroßer Uterus, Becken frei.
SC 35 %; SF $0,476 \text{ cm}^2 \pm 0,014$
- B.K. 1414/65 29 Jahre. Viriler Behaarungstyp, Menarche mit 14 Jahren. Klitorisvergrößerung, sehr kleiner Uterus, keine Ovarien zu tasten.
SC 35 %; SF $0,474 \text{ cm}^2 \pm 0,028$
- R.E. 6281/64 34 Jahre. Noch nie regelmäßige Blutungen. Amenorrhoe seit zwei Jahren. Normales äußeres Genitale. Anteversio, Anteflexio corporis uteri. Adnexe unauffällig. Sehstörungen; Lichtempfindlichkeit der Augen.
SC 27 %; SF $0,437 \text{ cm}^2 \pm 0,016$
- G.R. 2923/65 24 Jahre. Mit 15 Jahren Menarche. Keine Periode seit dem 18. Lebensjahr. Weibliche Behaarung, normale Mammae. Pflaumengroßer, derber, hypoplastischer Uterus, kleine Adnexe, Parametrien unauffällig.
SC 25 %; SF $0,435 \text{ cm}^2 \pm 0,013$
- F.D. 4961/65 18 Jahre. Körperbau und Behaarung weiblich, gut entwickelte Mammae. Primäre Amenorrhoe. Äußeres Genitale unauffällig. Rect. Untersuchung: haselnußgroße Resistenz in der Mittellinie. Ovarien nicht zu tasten. Aplasie der Vagina. RR 120/80. Gonadotropine: 167,4 I. E. HCG / 24 Std. Gestagene 0,8 mg 17-Keto-Steroide 7,7 mg/24 Std. Östrogene 14,3 / 24 Std.
SC 18%; SF $0,375 \text{ cm}^2 \pm 0,017$
- B.R. 5983/65 16 Jahre. Größe 169 cm, Spannweite 169 cm, Gewicht 61,5 kg. Angedeuteter Faltenhals, Mammae ausgebildet, Leistenbeugen unauffällig. Spärliche Axillar- und Schambehaarung. Primäre Amenorrhoe. Juveniles äußeres Genitale, Vagina fingerlang sondierbar. Rect. Untersuchung: Uterus ist als dünner Strang zu tasten, Ovarien nicht festzustellen. RR 100/70. Gonadotropine 14,72 I. E. HCG / 24 Std. Östrogene 32,55 / 24 Std. 17-Keto-Steroide 11,2 mg/24 Std.
SC 22 %; SF $0,370 \text{ cm}^2 \pm 0,012$
- A.R. 5821/65 23 Jahre. Primäre Amenorrhoe. Kleiner, harter, beweglicher Uterus. Adnexe unauffällig. Im Röntgenbild des Schädels eine auffallend tiefe Sella mit Doppelkonturierung des Sellabodens (Verdacht auf intraselläres Adenom). 17-Keto-Steroide 12,6 mg/24 Std.
SC 30 %; SF $0,369 \text{ cm}^2 \pm 0,011$

- S.G. 766/65 21 Jahre. Primäre Amenorrhoe. Äußeres Genitale hypoplastisch, kaum entwickelte Mammae, daumenendgliedgroßer Uterus, Adnexe und Parametrien unauffällig. 17-Keto-Steroide 23,8 mg/24 Std. SC 30 %; SF 0,353 cm² $\pm$ 0,010
- S.A. 1468/65 26 Jahre. Normaler weiblicher Habitus. Primäre Amenorrhoe. Normales äußeres Genitale, blind endigende Vagina. Laparotomie: normal aussehende Ovarien, Uterus und Tuben fehlen. Becken- niere rechts. Hochdruckkrisen (190 mm Hg systolisch). Chronische Bleiintoxikation. SC 30 %; SF 0,333 cm² $\pm$ 0,010
- W.E. 5056/60 25 Jahre. Adipositas, 98,4 kg. Primäre Amenorrhoe. Äußeres Ge- nitale normal, hypoplastischer Uterus, rechts normalgroßes Ovar zu tasten. Abrasio: kein funktionelles Endometrium. Follikelhormon- mangel. 17-Keto-Steroide 7,9 mg/24 Std. SC 25 %; SF 0,327 cm² $\pm$ 0,009
- W.G. 5951/65 19 Jahre. Größe 148 cm, Gewicht 47,8 kg. Normale Proportionen, keine Adynamie, Schilddrüse normal, keine Mammae ausgebildet, Drüsenkörper fehlt. Normale Axillarbehaarung, spärliche Schambe- haarung. Primäre Amenorrhoe. Äußeres Genitale unauffällig, Vagina fingerlang sondierbar, rectale Untersuchung: bohngroße Resistenz in der Mitte, Ovarien nicht sicher zu tasten. RR 125/90. Gonado- tropine 8,4 I.E. HCG / 24 Std. 17-Keto-Steroide 9,0 mg/ 24 h. Östrogene 1,68 / 24 Std. Sella unauffällig. Zuckerbelastung normal. SC 14 %; SF 0,314 cm² $\pm$ 0,011
- J.U. 849/64 21 Jahre. Größe 177 cm, Spannweite 189 cm. Lange Extremitäten, eunuchoider Habitus mit akromegalem Einschlag. Weibliche Be- haarung. Primäre Amenorrhoe. Äußeres Genitale normal weiblich. Vagina gut fingerlang, kleiner derber Uterus, Adnexe nicht zu tasten. RR schwankt zwischen 160/105 und 130/80. Gonadotropine 76,7 I.E. HCG / 24 h. 17-Keto-Steroide 8,4 mg/24 h. Sella unauffällig. Leichte Osteoporose. SC 5 %; SF 0,241 cm² $\pm$ 0,013
- D.R. 8053/65 20 Jahre. Minderwuchs 153 cm. Gewicht 54,8 kg. Faltenhals, Protrusio bulbi, überlange Arme. Mammae nicht entwickelt, Drüsengewebe fehlt, keine Axillarbehaarung. Primäre Amenorrhoe. Juveniles äuße- res Genitale. Gestreckter doppelhaselnußgroßer Uterus. Adnexe und Parametrien unauffällig. RR 140/90. Gonadotropine 7,5 I.E. HCG/ 24 h. 17-Keto-Steroide 7,3 mg/24 h. Östrogene 5,6/ 24 h.

Pregnandiol 0,5 mg. Normale Sella.

SC 6 %; SF 0,240 cm² $\pm$ 0,012

- P.R. 7169/65 24 Jahre. Hochwuchs mit akromegalem Einschlag. Unterentwickelte Mammae, weibliche Behaarung. Primäre Amenorrhoe. Äußeres Genitale weiblich. Hochgezogener Damm, stark verengter Introitus vaginae. Daumenendgliedgroßer Uterus. RR 170/100. sexchromatinnegativ.
- Md.A. 5081/64 22 Jahre. Minderwuchs. Primäre Amenorrhoe. Normal großer Uterus, zwei Tuben mit Keimleisten beiderseits. Histologie der Keimleisten: Bindegewebe, von kubischem Epithel ausgekleidetes Gangsystem. Osteoporose, Hypertonie, Diabetes. sexchromatinnegativ.
- S.U. 8054/65 19 Jahre. Minderwuchs 146 cm. Gewicht 52 kg, Adipositas, Spannweite 160 cm. Angedeuteter Faltenhals, Mammae nicht entwickelt, kein Drüsenkörper. Keine Axillarbehhaarung, fast fehlende Behaarung des Genitales. Primäre Amenorrhoe. Introitus angelegt. Vagina 9 cm lang, winzige Portio. Rectale Untersuchung: winzige Resistenz in der Mittellinie, Adnexe nicht zu tasten. Zuckerbelastung normal. Gonadotropine: 10,1 I.E. HCG 0 24 h. 17-Keto-Steroid 6,7 mg/24 h. Östrogene 12,2 / 24 h. RR 110/80. Röntgenbild des Schädels: abgeflachte Sella, Vergrößerung des Hinterhorns. sexchromatinnegativ.
- T.C. 1429/65 24 Jahre. Starke Extrimitäten- und Stammfettsucht. Gedrungener Hals. Äußeres Genitale normal. Kleiner Uterus. Adnexe und Parametrien unauffällig. Primäre Amenorrhoe. Hypertonie. sexchromatinnegativ.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Zuerst werden die Einzelergebnisse diskutiert. Daran schließt sich die vergleichende Diskussion verschiedener Werte.

1. Diskussion der Normalwerte

a.) Geschlechtschromatinaufigkeit bei normalen Frauen

Die Angaben der relativen Geschlechtschromatinaufigkeit in der Literatur schwanken von 11 % bis 40 - 60 % für Mundschleimhautzellen. Wir bestimmten einen Durchschnittswert von 26,4 %. Dieser Wert liegt nur wenig unter dem von 3000 (1962) angegebenen. Seine relative Niedrigkeit erklärt sich m.E. dadurch, daß wir erstens nur an der Zellmembran liegende Chromatininsprengen als Geschlechtschromatine werteten, und zweitens, daß bei der Auszählung eine brauchbare Zelle neben der anderen ausgewertet wurde und keine verwertbaren Zellen übersprungen wurden. Bei kontinuierlicher Auswertung des Präparates bleibt das Auge leicht an den auffälligen Zellkernen hängen, das sind die geschlechtschromatintragenden, und es ergibt sich ein höherer Wert.

Der Wert der niedrigsten normalen Geschlechtschromatinaufigkeit wurde zu 22 % bestimmt. Daraus ergibt sich, daß im Rahmen dieser Untersuchung die Chromatinaufigkeitgrenze vom Anormalen ins Normale bei einem Wert von etwa 20 % liegt.

b.) Flächenausdehnung der Geschlechtschromatine

Die aus dem Gesamtwert der Tabelle II errechnete wirkliche durchschnittliche Größe der Geschlechtschromatine der normalen Frau ($0,554 \mu^2 \pm 0,007$) stimmt in etwa mit den Angaben von Moore, K. L. und Barr, M. L. (1955) und von Schval, A. R. und Cavelman, W. G. B. (1961) überein. Lindsten, J. (1963) gibt als mittlere Geschlechtschromatinfläche zweier normaler Frauen $0,564 \mu^2 \pm 0,027$ und $0,487 \mu^2 \pm 0,016$ an (von uns in μ^2 umgerechnet). Diese Werte entsprechen den von uns gefundenen Flächenmitteln für die einzelnen normalen Frauen und dem durchschnittlichen Flächenmittel für die normale Frau.

c.) Vergleicht man die Häufigkeit der Geschlechtschromatine in Tabelle I mit den Flächenmitteln der Tabelle II für jede Kontrollperson, so stellt man fest, daß die Prozentzahlen mit wachsender Fläche steigen. Es besteht ein direktes Verhältnis zwischen Größe der Chromatinfläche und

relativer Häufigkeit der Geschlechtschromatine.

Wir können uns diese Tatsache so erklären, daß sich aus der normalverteilten Masse der Geschlechtschromatine einer Probandin umso mehr Sexchromatine darstellen, je mehr von diesen die Grenze der Sichtbarkeit und Differenzierbarkeit durch Größenzunahme überschreiten.

Die Probandin G.R. zeigt bei einem Flächenmittel von $0,477\mu^2 \pm 0,016$ in 22 % aller Kerne ein Geschlechtschromatin, die Probandin R.U. bei einem Flächenmittel von $0,512\mu^2 \pm 0,015$ in 32 % aller Kerne.

2. Diskussion der Zahlen-Ergebnisse bei den Patientinnen

a.) Vergleich von Geschlechtschromatinhäufigkeit und Chromosomenzahl

Vergleicht man die Anzahl der Chromosomen der Zellen der Patientinnen mit der Geschlechtschromatinhäufigkeit, so stellt man fest, daß zwei Patientinnen mit einer Chromatinhäufigkeit unter 15 % (R.E. und W.G.) überwiegend Kerne mit 45 Chromosomen haben. Bei Patientin M.A. klaffen der Chromatinbefund der Mundschleimhautzellen von 15 % und der zahlenmäßig normale Lymphozytenkaryotyp auseinander. Es könnte hier ein Fall von Gewebsmosaik (in verschiedenen Geweben verschiedene Karyotypen) vorliegen.

Um ein Gewebsmosaik könnte es sich auch bei Patientin D.R. handeln. Sie zeigt bei einer Geschlechtschromosomenkonstitution von XO in den Lymphozyten in 6 % geschlechtschromatinpositive Schleimhautzellen. Andererseits könnte man diese Inkongruenz auch durch die Annahme zu erklären versuchen, daß bei D.R. unspezifische Chromatinklumpchen als Geschlechtschromatine gewertet wurden, zumal die hier gemessenen Geschlechtschromatine sehr klein sind.

Patientin J.U., bei der in 5 % der Zellkerne Geschlechtschromatine gefunden wurde, hat ein kleines X-Bruchstück. Es liegt kein Mosaik vor. Bei den Patientinnen P.R. und Md.A., die auch X-Fragmente aufweisen, wurden keine Geschlechtschromatine gefunden. Dies mag mit der besonderen Kleinheit des Fragments und bei Md.A. mit der gleichzeitigen Mosaikbildung zusammenhängen.

Die 3 Patientinnen, deren Chromatinhäufigkeit von 15 - 20 % liegt (K.B., G.H. und F.D.), haben überwiegend Blutzellen mit 46 Chromosomen.

Ebenso verhält es sich mit 10 der Patientinnen mit über 20 % sex-chromatinpositiven Mundschleimhautzellen.

Bei den geschlechtschromatinnegativen Patientinnen erklärt sich der Chromatinbefund aus dem Chromosomenbefund (P.R. Fragment; Md.A. Fragment + Mosaik; S.U. und T.C. Turner).

b.) Vergleich von Häufigkeit und Größe der Geschlechtschromatine

Vergleichen wir die Häufigkeit des Auftretens der Geschlechtschromatine jeder Patientin mit ihrer mittleren Chromatingröße, so können wir keine Regeln in der Beziehung beider feststellen.

Die bei Patientin J.U. in 5 % der Kerne gefundenen Geschlechtschromatine sind sehr klein. Die Lymphozyten zeigen einen zahlenmäßig normalen Karyotyp mit X-Bruchstück. Die niedrige Häufigkeit, in der wir Geschlechtschromatine fanden, könnte dadurch erklärt werden, daß nur wenige Sex-Chromatine, etwa 5 %, der Gesamtbevölkerung der im Durchschnitt sehr kleinen Geschlechtschromatine sich als solche im Kern von den übrigen Chromatinklümpchen unterscheiden lassen.

3. Signifikanz der Sexchromatinflächen und der Chromosomenarmverhältnisse

Vergleichen wir nun die Signifikanzen der Geschlechtschromatinflächen mit denen der X-Chromosomenarmverhältnisse bei den 14 Patientinnen, für die beide Werte zur Verfügung stehen; Bei 5 Patientinnen weichen sowohl der Chromatin- als auch der Chromosomenbefund mit einer bestimmten Signifikanzwahrscheinlichkeit von der Norm ab; für die Geschlechtschromatinflächen beträgt die Signifikanzwahrscheinlichkeit ausnahmslos 0,001. Dabei zeigt Patientin K.B. ein signifikant abnorm großes Geschlechtschromatin und abnorm kleines Chromosomenverhältnis, die übrigen Patientinnen (F.D., S.G., S.A. und W.E.) haben signifikant abnorm kleine Geschlechtschromatine und abnorm große Chromosomenarmverhältnisse.

5 Patientinnen (W.R., G.H., T.G., H.T. und B.K.) zeigen sowohl im Geschlechtschromatin- als auch im Chromosomenbefund keine signifikante Abweichung von der Norm.

In 4 Fällen besteht eine signifikante Abweichung der Chromatinflächen von der Norm und kein signifikanter Unterschied der Chromosomenarmverhältnisse zur Norm.

4. Diskussion der Korrelation der Zahlenergebnisse

Von den 14 Patientinnen, bei denen sowohl Chromatinflächen als auch Chromosomenarmverhältnisse bestimmt wurden, ergab sich für 10 Fälle eine Übereinstimmung der Ergebnisse.

Die Unstimmigkeiten in der Korrelation der beiden Ergebnisreihen spielen sich im Bereich des Überganges signifikanter Werte in nicht signifikante und umgekehrt ab. Dabei entsprechen signifikante Chromatinwerte nichtsignifikanten Chromosomenwerten. Es liegt die Deutung nahe, daß im Übergangsbereich die Fehlerbreite beider Methoden besonders zum Ausdruck kommt.

Die Ergebnisse der Geschlechtschromatinhäufigkeiten und der Chromosomenzahlen einerseits und der Geschlechtschromatinflächen und der Chromosomenarmverhältnisse andererseits deuten auf Grund ihrer Korrelation auf einen wesentlichen Zusammenhang zwischen Geschlechtschromatin und X-Chromosom. Sie widersprechen nicht der Auffassung des Geschlechtschromatins als Erscheinungsform eines isopyknotischen X-Chromosoms oder eines Teils desselben. Sie deuten die Möglichkeit an, durch genaue Analyse einer Struktur des Interphasenkerns - des Geschlechtschromatins - qualitative und quantitative Aussagen über einen nur im Teilungskern sichtbaren Bestandteil der Zelle - das X-Chromosom - zu treffen. Doch dürfte diese Möglichkeit in der Praxis selten genutzt werden, da die genaue morphologische Beurteilung der Sexchromatine aufwendig ist.

5. Beziehung zwischen den Geschlechtschromatinbefunden der Patientinnen und den klinischen Befunden

a.) Geschlechtschromatinhäufigkeit

Bei den geschlechtschromatinpositiven Patientinnen korreliert die Chromatinhäufigkeit nicht mit der klinischen Symptomatik. Die geschlechtschromatinnegativen Patientinnen zeigen primäre Amenorrhoe.

b.) Wie verhalten sich Flächenmittel einer Patientin und klinischer Befund? Alle unsere Patientinnen mit Ausnahme von T.G., R.E. und M.A. weisen ein hypoplastisches inneres Genitale auf. Des weiteren klagen alle Patientinnen außer T.G., H.T. und B.K. über Blutungsstörungen. Bei W.R., G.H. und R.E. ist die Periode unregelmäßig. M.A. und G.R. haben eine sekundäre Amenorrhoe. Alle übrigen Patientinnen geben primäre Amenorrhoe an.

Die Geschlechtschromatine von 5 der 6 Patientinnen mit normaler oder nur unregelmäßiger Periode weichen in ihren Flächenausmaßen statistisch nicht signifikant von der Norm ab (Ausnahme R. E.). Alle Patientinnen, deren Geschlechtschromatinflächen mit einer Signifikanzwahrscheinlichkeit von 0,001 abnorm groß oder klein sind, leiden an primärer Amenorrhoe, mit Ausnahme von R. E. und G. R.

DISKUSSION DER METHODE

Von den einzelnen Personen erhält man durch Standardisierung der Methode vergleichbare Werte. Unsere Untersuchungsmethode ist nur angenähert standardisiert, da sie unausweichliche subjektive Elemente enthält.

Der beim Abstrich ausgeübte Druck, der Materialausstrich auf dem Objektträger, die Zeit, die bis zur Fixierung vergeht und die Zeit der Fixierung können nicht exakt konstant gehalten werden. Die Färbung ist nur dann streng standardisiert, wenn alle Präparate wie ein einziges gefärbt werden, was uns nicht möglich war.

Die Ergebnisse der Auszählung geschlechtschromatinpositiver Zellen in einem Präparat hängen davon ab, was der Prüfer als Geschlechtschromatin ansieht. In unserem Fall wurden nur an der Zellmembran liegende, sich deutlich als Körperchen vom Plasma abgrenzende Chromatinklumpchen gewertet. Zweitens wurden die Präparate Zelle für Zelle und nicht sprunghaft durchgemustert, was ebenfalls die Höhe des Ergebnisses beeinflusst.

Zur Beurteilung der Flächenmessung: Es kommt zunächst darauf an, gleichwertige Kernphotos herzustellen. Unsere Filme wurden nicht gleichzeitig entwickelt, so daß kleine Dichteunterschiede möglich sind. Ebenso ist die Dichte der Positive Schwankungen unterworfen, da die Negative nicht automatisch vergrößert wurden.

Die Messung der Geschlechtschromatine ist mit Subjektivität belastet. Das dunkle Chromatinkörperchen geht auf dem Photo im Bereich eines halben Millimeters infolge der starken Vergrößerung allmählich in das helle Plasma über. Um die die genaue Messung hindernde Unschärfe zu umgehen, wurde mit Bleistift um jedes Geschlechtschromatin in möglichst gleicher Weise eine Begrenzung gezogen. Alle Sexchromatine wurden nach Einarbeitung in wenigen Tagen hintereinander gemessen, um den subjektiven Fehler konstant zu halten.

ZUSAMMENFASSUNG

Es werden die Geschlechtschromatine der nach Klinger gefärbten Mund-scheinhautausstriche von 5 normalen weiblichen Personen und von 22 Patientinnen mit vermuteter Abnormalität des Geschlechtschromatinbefundes im Lichtmikroskop mit Ölimmersion untersucht.

Die durchschnittliche Häufigkeit des Auftretens geschlechtschromatinpositiver Mundschleimhautzellen bei normalen Frauen wird durch Auszählung zu 26,4 % bestimmt. Ebenso wird der Prozentsatz geschlechtschromatinpositiver Zellkerne für jede Patientin ermittelt. 18 Patientinnen sind in verschiedenem Maß geschlechtschromatinpositiv und 4 geschlechtschromatinnegativ. Die Werte der Patientinnen werden einerseits mit dem Normalwert verglichen, andererseits dem Karyotyp der Lymphozyten gegenübergestellt. (Alle Chromosomenwerte stammen aus der Inaugural-Dissertation von Jörg, J.)

Zur Bestimmung der Flächenausmaße der Geschlechtschromatine werden 282 Geschlechtschromatine der Kontrollpersonen fotografiert, vergrößert und vermessen, ebenso insgesamt 950 Geschlechtschromatine der geschlechtschromatinpositiven Patientinnen. Die durchschnittliche Ausdehnung des Geschlechtschromatins der normalen Frau wird zu $0,554 \mu^2 \pm 0,007$ berechnet.

Die Flächenausmaße der Geschlechtschromatine der Patientinnen werden mit der Geschlechtschromatinfläche der normalen Frau verglichen. 2 Patientinnen weisen ein signifikant abnorm großes, 11 Patientinnen ein signifikant abnorm kleines Geschlechtschromatin auf, bei 5 Patientinnen kann statistisch keine signifikante Abweichung von der Norm der Geschlechtschromatingröße nachgewiesen werden.

Die Flächenausmaße der Geschlechtschromatine der Kontrollpersonen und der Kranken werden zu den Längenverhältnissen der X-Chromosomenarme in Beziehung gesetzt. Bei 10 von 14 Patientinnen stimmen die Geschlechtschromatin- und Chromosomenergebnisse überein.

Fünf der korrelierenden Fälle weichen weder im Geschlechtschromatin- noch im Chromosomenbefund signifikant von der Norm ab. Eine Patientin weist signifikant abnorm große Geschlechtschromatine mit entsprechendem Chromosomenbefund auf, vier Patientinnen haben signifikant abnorm kleine Geschlechtschromatine mit entsprechend signifikant abnormem Chromosomenbefund.

Die klinischen Befunde der Patientinnen werden den Geschlechtschromatinbe-

funden gegenübergestellt. Alle geschlechtschromatinpositiven Patientinnen, deren Geschlechtschromatinflächen sich mit einer Signifikanzwahrscheinlichkeit von 0,001 von der Normfläche unterscheiden, außer zweien und alle geschlechtschromatinnegativen Patientinnen geben eine primäre Amenorrhoe an.

Herrn Professor Dr. W. Bickenbach und
Herrn Dr. H. -J. Soost möchte ich für
die Überlassung des Themas und alle
Hilfe während der Durchführung der Ar-
beit danken.

LITERATURVERZEICHNIS

I. Tabellen und Lehrbücher

1. Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabelle, 6. Auflage, Basel(1960)
2. Freudenberg, K., Grundriß der medizinischen Statistik, Stuttgart (1962)
3. Overzier, C., Die Intersexualität, Stuttgart (1961)
4. Yunis, J.J., Human Chromosome Methology
New York and London (1965)

II. Originalarbeiten

1. Austin, C. R.: Sex chromatin in embryonic and fetal tissue
Acta cytol.(Phila.) 6, 61 - 64 (1962)
2. Bamford, S. B., Cassin, C. M. and Mitchell, B. S.:
Sex chromatin determinations in selected cases of
developmental sex abnormalities with an assessment
of results
Acta cytol.(Phila.) 7, 151 - 158 (1963)
3. Barr, M. L. and Bertram, E. G.:
A morphological distinction between neurons of the
male and female, and the behavior of the nucleolar
satellite during accelerated nucleoprotein synthesis
Nature 163, 676 - 677 (1949)
4. Barr, M. L.: Sex chromatin and phenotype in man
Science 130, 679 - 685 (1959)
5. Barr, M. L. and Carr, D. H.:
Correlations between sexchromatin and sexchromosomes
Acta cytol. (Phila.) 6, 34 - 45 (1962)
6. Barr, M. L.: Sex chromatin techniques
in Yunis, J.J., Human Chromosome methology,
New York and London (1965)
7. Carpentier, P. J.: Evaluation of sex chromatin in smears from the
reproductive and urinary tracts
Acta cytol. (Phila.) 6, 25 - 31 (1962)

8. Davidson, R. G. : The Lyon hypothesis
J. Pediat 65, 765 - 75 (1964)
9. Demars, R. : Sex chromatin mass in living cultivated human cells
Science 138, 980 - 981 (1962)
10. Demars, R. : Sex chromatin patterns and the Lyon hypothesis
Science 141, 649 - 50 (1963)
11. Ford, C. E. , Jones, K. W. , Polani, P. E. , de Aleneida, J. C. and
Briggs, J. H. : A sex-chromosome anomaly in a case of gonadal
dysgenesis (Turners Syndrome)
Lancet I, 711 - 713 (1958)
12. Ford, C. E. : The cytogenetic analysis of some disorders of sex
development
Am. J. Obstet Gynecol. 82, 1154 - 1161 (1961)
13. Fraccaro, M. and Lindsten, J. :
A child with 49 chromosomes
Lancet II, 1303 (1960)
14. Gilbert, C. W. , Muldal, S. , Lajtha, L. G. and Rowley, J. :
Time-sequence of human chromosome duplication
Nature 195, 869 - 873 (1962)
15. Grumbach, M. M. and Morishima, A. :
Sex chromatin and sex chromosomes: on the origin
of sex chromatin from a single X chromosome.
Acta cytol. (Phila.) 6, 46 - 60 (1962)
16. Grumbach, M. M. , Morishima, A. and Taylor, J. H. :
Human sex chromosome abnormalities in relation to
DNA replication and heterochromatinisation
Proc. Nat. Acad. Sci. V.S. 49, 581 - 89 (1963)
(zit. nach Barr, M. L. : Sex chromatin techniques
1965)
17. Harnden, D. G. and Jacob, P. A. :
Cytogenetics of abnormal sexual development in man
Brit. Med. Bull. 17, 206 - 212 (1961)
(zit. nach Barr, M. L. : Sex chromatin techniques
1965)
18. Hienz, H. A. : Die zellkernmorphologische Geschlechtsbestimmung
in Theorie und Praxis
Habilitationssarbeit, Heidelberg (1959)

19. Hinrichsen, K. : Weitere Befunde über das cytologische Erscheinungsbild des Geschlechtschromatins
Verh. Anat. Ges. 57, 379 - 83 (1963)
20. Homann, W. : Funktionswechsel an Kernen von Zellen des Mäuse-Aszites-Carcinoms
Z. Krebsforschung 59, 673 - 678 (1954)
21. Hösli, P. : Shape and position of the sex chromatin in living human cells
Acta Anat. (Basel) 55, 370 - 92 (1963)
22. Jacobs, P. A. , Harnden, D. G. , Buckton, K. E. , Court Brown, W. M. , King, M. J. , McBride, J. A. , Mac Gregor, T. N. and Maclean, N. : Cytogenetic studies in primary amenorrhoea
Lancet I, 1183 - 89 (1961)
23. Jörg, J. : Inaugural-Dissertation in Vorbereitung
24. Klinger, H. P. : Das Sexchromatin in polyploiden Kernen
Verh. Anat. Ges. 1958, 21 - 3
25. Klinger, H. P. : Morphological characteristics of the sex chromatin
Acta cytol. (Phila.) 6, 69 - 72 (1962)
26. Klinger, H. P. , Lindsten, J. , Fraccaro, M. , Barrai, J. and Dolinar, Z. J. : DNA-content and area of sex chromatin in subjects with structural and numerical aberrations of the X-Chromosome
27. Kosenow, W. : Derzeitige Methoden zur Bestimmung des chromosomalen Geschlechts
Kinderärztl. Praxis 25, 9 (1957)
28. Lenz, W. und Pfeifer, R. A. : Genotyp, Chromosomen und Chromatinbefund bei Intersexen
Arch. Gynaek. 198, 335 (1963)
29. Lindsten, J. : The nature of X-chromosome aberrations in Turners Syndrom
ref. in Cytogenetics 3, 75 (1963)
30. Ludwig, K. S. : Über die Technik der Darstellung des Geschlechtschromatins
Verh. Anat. Ges. 1958, 12 - 16

31. Lyon, M. F. : Gene action in the X-chromosome of the mouse
(*Mus musculus* L.)
Nature 190, 372 - 373 (1961)
32. Miles, C. P. : Morphology and functional relations of sex chromatin
in cultured amnion cells
Exp. Cell. Res. 20, 324 - 37 (1961)
33. Miller, O. J. : Sex determination, sex differentiation and sex
chromosome aberration in man
ref. in *Acta cytol. (Phila.)* 7, 148 (1963)
43. Mittwoch, U. : Sex chromosomes and sex chromatin
Nature (London) 204, 1032 - 4 (1964)
35. Moore, K. L. and Barr, M. L. :
Smears from the oral mucosa in the detection of
chromosomal sex
Lancet II, 57 (1955)
36. Moore, K. L. : The sex chromatin; its discovery and variations in the
animal kingdom
Acta cytol. (Phila.) 6, 1 - 10 (1962)
37. Moore, K. L. : The genetics of sex determination and sex differentiation
in man. Historical review and discussion of new ideas
Manitoba Med. Rev. 42, 497 - 514 (1962)
(zit. nach Barr, M. L., Sex chromatin techniques
1965)
38. Muldal, S. : Origin of the Barr Body
Lancet II, 1384 - 5 (1962)
39. Neuss, O. : Statistik und Berechnung in der Medizin
Materia Medica Nordmark XVII/15 (1965)
40. Ohno, S., Kaplan, W. D. and Kinosita, R. :
Formation of the sex chromatin by a single X-chromo-
some in liver cells of *Rattus norvegicus*
Exptl. Cell. Res. 18, 415 - 418 (1959)
41. Ohno, S. and Hauschka, T. S. :
Allorecycling of the X-chromosome in tumours and normal
tissues
Cancer Res. 20, 541 - 545 (1960)

42. Ohno, S. and Makino, S.:
The single-X nature of sex chromatin in man
Lancet I, 78 - 79 (1961)
43. Ohno, S.:
The orgin of the sex chromatin body
ref. in Acta cytol. (Phila.) 7, 147 (1963)
44. Pfeiffer, G. W.:
Do Androgens influence the nuclear sexing or
polymorphic sexing?
Acta cytol. (Phila.) 6, 122 - 124 (1962)
45. Pfeifer, G.:
Morphologische und funktionelle Kriterien des Sex-
Chromatins
Arch. Gynaek. 198, 397 - 8 (1963)
46. Schnede, W.:
Untersuchungen über das Sexchromatin in mensch-
lichen Fibroblastenkulturen
Acta Anat. (Basel) 57, 52 - 65 (1964)
47. Schwarzacher, H. G.:
Beziehungen zwischen Geschlechtschromatin und
Geschlechtschromosomen
Wien. Klin. Wschr. 74, 481 - 4 (1962)
48. Schwarzacher, H. G.:
DNS-Gehalt und Geschlechtschromatin mehrkerniger
Amnionepithelzellen des Menschen
Verh. Anat. Ges. 57, 94 - 102 (1963)
49. Schwarzacher, H. G.:
Untersuchungen über Kernstruktur und Chromozentren
an Zellen der Gewebeskultur
Verh. Anat. Ges. 59, 32 - 4 (1964)
50. Schwarzacher, H. G.:
Sexchromatin und Chromosomen in normalen Geweben
des Menschen
Wien. Klin. Wschr. 76, 857 - 859 (1964)
51. Schwarzacher, H. G.:
Kernstruktur und Geschlechtschromatin menschlicher
Zellen in vitro im lebenden Zustand und nach Fixie-
rung
Acta Anat. (Basel) 57, 91 - 104 (1964)

52. Sohval, A. R. : Recent progress in human chromosome analysis and its relation to the sex chromatin
Amer. J. Med. 31, 397 - 441 (1961)
(zit. nach Barr, M. L., Sex chromatin techniques 1965)
53. Sohval, A. R. : Chromosomes and sex chromatin in normal and anomalous sexual development
(zit. nach Barr, M. L., Sex chromatin techniques 1965)
54. Sohval, A. R. and Casselman, W. G. B. :
Alternation in size of nuclear sex chromatin masses
(Barr Body) induced by antibiotics
Lancet II, 1386 - 1388 (1961)
55. Soost, H. J. : Are there differences in the sex chromatin content in cells from different organs in the same individual?
Acta cytol. (Phila.) 6, 139 - 141 (1962)
56. Taft, P. D., Dalal, K. P., McArthur, J. W. and Worcester, J. :
Sex chromatin body size and its relation to X-chromosome structure
Cytogenetics 4, 87 - 95 (1965)
57. Taylor, M. : Sex chromatin in the new-born
Lancet I, 912 - 4 (1963)
58. Wolf-Heidegger, G. :
Über das Geschlechtschromatin
Verh. Anat. Ges. 1958, 3 - 11
59. Wolf-Heidegger, G. und Klinger, H. P. :
Zur Frage der Darstellung des Geschlechtschromatins bei Mollusken, Amphibien und Nagern
Verh. Anat. Ges. 1958, 17 - 20
60. Zsifkovits, S., Mehes, C., Jobst, C. :
Effect of sexual maturation and castration on the sex chromatin pattern in the male rat
Nature (London) 184(Suppl. 16) 1239 - 40 (1959)

LEBENS LAUF

Am 26. Januar 1942 wurde ich, Rainer Pompecki, als Sohn des Dr. med. Johannes Pompecki und seiner Ehefrau Elisabeth-Charlotte, geb. Hofrichter, in Breslau geboren.

Ich besuchte die Volksschule in Dorfen und Lengdorf (Oberbayern) und das Humanistische Gymnasium in Scheyern und München, wo ich 1961 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1961 begann ich das Studium der Medizin an der Universität München ; hier bestand ich im Oktober 1962 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Februar 1964 die Ärztliche Vorprüfung. Am 28. Juni 1967 bestand ich das Medizinische Staatsexamen.

